

4/7/2
DIALOG(R) File 352:Derwent WPI
(c) 2002 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

007649139

WPI Acc No: 1988-283071/198840

Prodn. of glucose-1-phosphate - by treating dextrin and orthophosphate with phosphorylase, useful as antibacterial, antitumour drugs etc.

Patent Assignee: KAO CORP (KAOS)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 002

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 63208594	A	19880830	JP 8743759	A	19870226	198840 B
JP 94095942	B2	19941130	JP 8743759	A	19870226	199501

Priority Applications (No Type Date): JP 8743759 A 19870226

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
-----------	------	-----	----	----------	--------------

JP 63208594	A	7			
-------------	---	---	--	--	--

→ JP 94095942 B2 4 C12P-019/02 Based on patent JP 63208594 ✓

Abstract (Basic): JP 63208594 A

In the prodn. of glucose-1-phosphate (G-1-P) by treatment of alpha-glucan and orthophosphate with a phosphorylase, the improvement comprises using dextrin having a DE value (dextrose equiv.) of 0.5-20 as the alpha-glucan.

G-1-P can be prep'd. by (1) dissolving dextrin with DE value of 0.5-20 in water at 10-100 deg. C (pref. 20-40 deg. C) and adding a 0.01-4 mol/L orthophosphate soln., (2) dissolving dextrin with DE value of 0.5-20 in 0.01-4 mol/L aq. orthophosphate soln. of 10-100 deg. C (pref. 20-40 deg. C), adjusting the pH with an alkali soln., adding a phosphorylase derived from animals, vegetables, or microorganisms and reacting the mixt. at 10-50 deg. C, pref. 25-45 deg. C or (3) dissolving dextrin with DE value of 0.5-20 in a phosphoric acid soln. of 10-100 deg. C (pref. 20-40 deg. C), adjusting the pH of the soln. with alkali, adding phosphorylase derived from animals, vegetables or microorganisms and reacting the mixt. at 10-50 deg. C, pref. 25-40 deg. C. Dextrin with DE value of 0.5-20 can be prep'd. by chemical or enzymatic degradation of starch or glycogen. The DE value can be determd. by Somogy method as described in J. Biol. Chem. 195, 19 (1952).

USE/ADVANTAGE - G-1-P is useful for antibacterial agents, antitumour agents or drugs acting on circulatory system. The presence process gives G-1-P with low cost using simplified procedure.

0/0

Derwent Class: B03; D16

International Patent Class (Main): C12P-019/02

International Patent Class (Additional): C07F-009/09

?LOGOFF

⑩ 日本国特許庁 (JP) ⑪ 特許出願公開
⑫ 公開特許公報 (A) 昭63-208594

⑬ Int.Cl.
C 07 F 9/09
C 12 P 19/02

識別記号 庁内整理番号
G-6917-4H
7236-4B

⑭ 公開 昭和63年(1988)8月30日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全7頁)

⑮ 発明の名称 グルコースー1-リン酸の製造法

⑯ 特 願 昭62-43759
⑰ 出 願 昭62(1987)2月26日

⑱ 発明者 茅根滋人 和歌山県和歌山市西浜1450
⑲ 発明者 黒崎富裕 大阪府泉南郡岬町淡輪1465
⑳ 発明者 今村孝 和歌山県和歌山市西浜1450
㉑ 出願人 花王株式会社 東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番10号
㉒ 代理人 弁理士 有賀三幸 外2名

→ 特公平6-9594

明細書

1. 発明の名称

グルコースー1-リン酸の製造法

(白金錠体)、心臓病の治療薬(アミン塩)

として有用なグルコースー1-リン酸の有利な製造法に関する。

2. 特許請求の範囲

1. α -グルカンとオルトリリン酸塩とからホスホリラーゼを用いてグルコースー1-リン酸を製造する方法において、 α -グルカンとしてDE値0.5~2.0のデキストリンを用いることを特徴とするグルコースー1-リン酸の製造法。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、グルコースー1-リン酸の製造法に関するもので、更に詳細には解糖系の初期化合物であり、例えば、医薬用抗腫瘍剤、抗虚熱剤

(従来の技術及びその問題点)

従来、グルコースー1-リン酸(以下「G-1-P」と略称する)の製造法としてはホスホリラーゼの酵素触媒作用により α -グルカン(種々のデンプン、グリコーゲン)とオルトリリン酸塩とから製造する方法が種々知られている。例えば、家児筋肉抽出液を酵素液としてグリコーゲンから製造する方法(C. R. J. Biol. Chem. 121 465 (1937))、ボテトの汁を酵素液としてデンプンから製造する方法(C. S. Hanes Proc. Roy. Soc. B 129 174 (1900))等がある。具体的には α -

特開昭63-208594 (2)

グルカンとオルトリン酸塩を基質とし、これにホスホリラーゼを作用させて G-1-P を合成し、未反応オルトリン酸塩を $MgNH_4PO_4$, $Ba_2(PO_4)_2$, $Mg_2(PO_4)_2$, $Li_2(PO_4)_2$ 等の不溶塩にして除去精製後、イオン交換樹脂を使用したりアルコール再沈したりして未反応グルカンを除き G-1-P を製造するものである。

本発明者らは既に G-1-P の製造において、回収したオルトリン酸塩が再利用可能な、コスト的にも有利な電気透析によるオルトリン酸塩の分離・回収法を開発している。この分離法を用いさらにコスト的に有利に G-1-P を製造するには、製造された G-1-P 濃液の G-1-P 含量が高いほど電気透析の処理費が安くなるので、G-1-P を高濃度

ン酸塩との反応について、特に、用いる α -グルカンについて検査研究をおこなつた結果、特定のデキストリンは水に対する溶解度が高く、しかもその高濃度溶液の粘度も高くないこと、したがつて上記反応における α -グルカンとして好適に用いられることを見出し、本発明を完成した。

すなわち本発明は、 α -グルカンとオルトリン酸塩とからホスホリラーゼを用いて G-1-P を製造する方法において、 α -グルカンとして DE 値 0.8 ~ 2.0 のデキストリンを用いることを特徴とする G-1-P の製造法を提供するものである。

本発明において用いるデキストリンは、DE 値が 0.8 ~ 2.0 のものであり、特に 3 ~ 1.5

で製造することが必要とされていた。

しかし、従来の方法においては、基質である α -グルカンとして種々のデンプン、ダリコーゲン等が用いられるが、これら化合物は、それ自体水に対する溶解度が低かつたり、高濃度溶液とした場合に粘度が上昇する等の問題があり、この結果、高濃度で G-1-P を製造することは困難であつた。

従つて、ホスホリラーゼ存在下での α -グルカンとオルトリン酸塩からの G-1-P 製造において、G-1-P を高濃度で製造が可能な反応系の開発が望されていた。

〔問題を解決するための手段〕

かかる実情において本発明者らは、ホスホリラーゼ存在下での α -グルカンとオルトリ

のものが好ましい。ここで用いる DE (Dextrose Equivalent) 値とは、糖化の進行程度を示す指標であり、次の式

$$DE \text{ 値} = \frac{\text{直接還元糖 (グルコースとして表示)}}{\text{全固形分}} \times 100$$

で示される。そして、デキストリンについての DE 値は、直接還元糖をソモジー (Somogyi) 法 (J.Biol.Chem. 195 19 (1952)) により測定し、算出される。

本発明において用いるデキストリンは上記に示す DE 値のものであるが、その理由は DE 値が 0.8 以下のデキストリンを使用した場合 5% の濃度で反応液の粘度が上昇し、また、DE 値が 2.0 以上のデキストリンを使用した場合は酵素活性が悪く、いずれの場合も高

特開昭63-208594 (3)

収量でG-1-Pを製造することができないためである。

本発明に使用されるDE値0.5~20のデキストリンは、デンプンもしくはグリコーゲンを化学的に分解したものでも、またα-アミラーゼ、イソアミラーゼ等の酵素で分解したもののがそれでもよい。

本発明方法はα-グルカンとしてDE値0.5~20のデキストリンを用いる以外は、公知のホスホリーゼを用いるG-1-Pの製造法に従い実施することができる。

具体的には、例えばDE値0.5~20のデキストリンを10~100℃、好ましくは20~40℃の水に溶解し、そこに0.1~4mol/Lのオルトリン酸塩水溶液を加える

か、もしくはデキストリンを1~10℃、好ましくは2~4℃の0.1~4mol/Lのオルトリン酸塩水溶液に溶解するか、もしくはデキストリンを10~100℃、好ましくは20~40℃のリン酸水溶液に溶解したのち、アルカリ溶液でpHを調整して得た溶液に、動物、植物、微生物等から得られたホスホリーゼもしくはその含有物を加え、10~50℃、好ましくは25~40℃で反応せしめることによりG-1-Pが製造される。

上記反応におけるその他の条件、つまり反応時間、pH、防腐剤、添加剤、搅拌の有無等は目的に応じて設定すればよい。

(発明の効果)

本発明のG-1-Pの製造方法はDE値0.5~20のデキストリンを使用する為、デキストリンの溶解度がデンプン、グリコーゲンに比べ高く、高濃度での反応が可能となり、G-1-Pの生産収量を増加できるためコスト的に有利なものである。且つまた、デキストリンの溶解度が高いことから、通常必要とされるデキストリンの加熱溶解が不要であり、製造工程を簡略化でき、より一層コスト的に有利なものである。

(実施例)

次に実施例を挙げて説明する。なお、以下の実施例で用いる各DE値のデキストリンは次の方法により調製した。

(デキストリンの調製)

マテトデンプン100gをイオン交換水200mlに懸濁し、煮沸浴にてのり化する。これを50℃、pH4.5に調整しα-アミラーゼを加え反応を行い、毎々サンプリングにより直接過元箱の量を測定し、目的のDE値になつたときに煮沸し、反応を終了させる。次いでろ過により不溶物を除いた後、さらに煮沸浴にて水分を蒸発させ水飴状にする。500mlのエタノールを加えデキストリンを析出させ、ろ過後真空乾燥により目的のDE値のデキストリン82~95%を得た。

実施例1

DE値39.7のデキストリン15gを、 KH_2PO_4 3.8g及び K_2HPO_4 5.6gを溶解した水溶液200ml(40℃)で溶解する。これに、

ポテト 300 g をジューサーでつぶし、遠心分離して得たポテトのすり汁 95 ml および防腐剤としてのトルエン 1 ml を加え、イオン交換水で 300 ml に調整後、40℃で 48 時間反応させた。その結果、118.9 mmol / L の G-1-P を得た。

実施例 2

DE 酶 287 のデキストリン 1.0 g を、
 KH_2PO_4 3.8 g、 K_2HPO_4 5.6 g を溶解した
 水溶液 200 ml K 25℃ で溶解する。これに、
 ポテト 300 g をジューサーでつぶし遠心分離して得たポテトのすり汁 95 ml および防腐剤としてトルエン 1 ml を加え、イオン交換水で 300 ml に調整後 40℃ で 48 時間反応させた。その結果、116.6 mmol / L の G -

テト 1.0 g から公知の方法 (中野憲一、福井俊郎: 濃粉科学, 24, 80 (1977)) で酵素ホスホリラーゼを抽出・精製し濃縮した溶液 1.5 ml (ホスホリラーゼ活性 2089 U / ml) および防腐剤としてのトルエン 1 ml を加え、イオン交換水で 30 ml に調整後 40℃ で 24 時間反応させた。その結果 210 mmol / L の G-1-P を得た。

実施例 5

DE 酶 397 のデキストリン 0.9 g を、
 KH_2PO_4 3.8 g、 K_2HPO_4 5.6 g を溶解した水溶液 20 ml K 27℃ で溶解する。これにポテト 1.0 g から公知の方法 (中野憲一、福井俊郎: 濃粉科学, 24, 80 (1977)) で酵素ホスホリラーゼを抽出・精製し、濃縮した

1 - P を得た。

実施例 3

DE 酶 1126 のデキストリン 1.5 g を、
 KH_2PO_4 3.8 g 及び K_2HPO_4 5.6 g を溶解した
 水溶液 200 ml K 25℃ で溶解する。これに、
 ポテト 300 g をジューサーでつぶし、遠心分離して得られたポテトのすり汁 95 ml および防腐剤としてのトルエン 1 ml を加え、イオン交換水で 300 ml に調整後、40℃ で 48 時間反応させた。その結果、119.8 mmol / L の G - 1 - P を得た。

実施例 4

DE 酶 397 のデキストリン 3.0 g を、
 KH_2PO_4 3.8 g 及び K_2HPO_4 5.6 g を溶解した
 水溶液 20 ml K 27℃ で溶解する。これにポ

液 1.5 ml (ホスホリラーゼ活性 2089 U / ml) および防腐剤としてのトルエン 1 ml を加え、イオン交換水で 30 ml に調整後 40℃ で 24 時間反応させた。その結果、214 mmol / L の G - 1 - P を得た。

実施例 6

DE 酶 1126 のデキストリン 0.9 g を、
 KH_2PO_4 5.7 g 及び K_2HPO_4 8.4 g を溶解した水溶液 20 ml K 27℃ で溶解する。これに、
 ポテト 1.0 g から公知の方法 (中野憲一、福井俊郎: 濃粉科学, 24, 80 (1977)) で酵素ホスホリラーゼを抽出・精製し、濃縮した溶液 1.25 ml (ホスホリラーゼ活性 2418 U / ml) および防腐剤としてのトルエン 1 ml を加え、イオン交換水で 30 ml に調整後 40

特開昭63-208594 (5)

て24時間反応させた。その結果、23 mmol/LのG-1-Pを得た。

実施例7

DE値397のデキストリン3%をイオン交換水約90mLに28℃で溶解する。これに、KH₂PO₄ 2.8%及びK₂HPO₄ 1.4%を含有した100mLの水溶液とポテト300gをジューサーでつぶし、遠心分離して得たポテトのすり汁100mLと、防腐剤としてのトルエン1mLとを加え、イオン交換水で300mLに調整後40℃で24時間反応させた。その結果361mmol/LのG-1-Pを得た。

実施例8

DE値787のデキストリン3%をイオン交換水約90mLに28℃で溶解する。これに、

調整後、40℃で24時間反応させた。その結果333mmol/LのG-1-Pを得た。

比較例1

ポテトデンプンと本発明で用いるデキストリンの溶解度、粘度、反応性について測定し比較した。ポテトデンプンは和光純薬工業製の一級試薬を使用した。

溶解度

溶解度は24℃においてイオン交換水100mLに溶解する重量(g)とした。

ポテトデンプン	不溶
デキストリン(DE397)	60.4

粘度

粘度は40℃においてD型粘度計にて測定

KH₂PO₄ 2.8%及びK₂HPO₄ 1.4%を含有した100mLの水溶液と、ポテト300gをジューサーでつぶし、遠心分離して得たポテトのすり汁100mLと、防腐剤としてのトルエン1mLとを加え、イオン交換水で300mLに調整後、40℃で24時間反応させた。その結果369mmol/LのG-1-Pを得た。

実施例9

DE値1126のデキストリン3%をイオン交換水約90mLに28℃で溶解する。これに、KH₂PO₄ 2.8%及びK₂HPO₄ 1.4%を含有した100mLの水溶液とポテト300gをジューサーでつぶし、遠心分離して得たポテトのすり汁100mLと、防腐剤としてのトルエン1mLとを加えイオン交換水で300mLに

した。

濃度(%)	10	20	30
ポテトデンプン	ゲル化 [†]	ゲル化 [†]	ゲル化 [†]
デキストリン(DE397)	10cp	23cp	70cp

・ゲル化のため測定不可

反応性

反応性に関しては、デキストリンもしくはポテトデンプン1~10%、オルトリシン酸塩1.5mmol/Lの条件下で反応させたときに得られたG-1-P量(mmol/L)で比較した。具体的には、KH₂PO₄ 2.8%及びK₂HPO₄ 1.4%を含有する水溶液150mLに本発明のデキストリン3~30%を28℃で溶解し、これにポテト300gをジューサーでつぶし

遠心分離して得たポテトのすり汁 100ml および防腐剤としてのトルエン 1ml を加え、イオン交換水で 300ml に調整後 40℃ で反応させ G-1-P を製造した。一方、ポテトデンプンは 3~30% を約 100ml のイオン交換水に懸濁させ、煮沸浴中で溶解させ室温で冷却する。これにイオン交換水 100ml、 KH_2PO_4 28.6g 及び K_2HPO_4 41.8g を加え溶解し、これにポテト 300g をジューサーでつぶし遠心分離して得たポテトのすり汁 100ml および防腐剤としてのトルエン 1ml を加え、イオン交換水で 300ml に調整後 40℃ で反応させた。なお得られた G-1-P 量は、経時的に測定し G-1-P 量が変化しなくなつたところの値とした。

KH_2PO_4 38g 及び K_2HPO_4 56g を溶解した溶液 200ml に懸濁し、煮沸浴中で溶解し冷却後、これにポテト 300g をジューサーでつぶし、遠心分離して得たポテトのすり汁 95ml と防腐剤としてのトルエン 1ml とを加え、300ml に調整後 40℃ で 48 時間反応させた。得られた G-1-P 量は以下のとおりであり、本発明範囲外の DE 値を有するデキストリンを用いても良い結果は得られない。

デキストリンの DE 値	合成 G-1-P (mmol/L)
0.28	反応不可*
3.97 (実施例 1)	11.89

* 反応液がゲル化。

濃度 (%)	1	3	5	10
ポテトデンプン	317.944	•	•	•
デキストリン (DE3.97)	406.1038	1598.1607		

* 反応液がゲル化し反応不可。

以上の結果から、本発明のデキストリンを用いることにより G-1-P 収量が増加し、コスト的に有利に G-1-P を製造することが可能となることが明らかである。また、デキストリンを用いることによつてローダルカンの溶解に加熱処理が不要となり、G-1-P 製造工程の簡略化が可能となつた。

比較例 2

DE 値 0.28 のデキストリン 15g を、

比較例 3

DE 値 2.1 のデキストリン 15g を KH_2PO_4 38g 及び K_2HPO_4 56g を溶解した溶液 200ml に 25℃ で溶解する。これにポテト 300g をジューサーでつぶし遠心分離して得たポテトのすり汁 95ml と防腐剤としてのトルエン 1ml とを加え、300ml に調整後、40℃ で 48 時間反応させた。得られた G-1-P 量は以下のとおりである。

デキストリンの DE 値	合成 G-1-P (mmol/L)
2.1	47.1
11.28 (実施例 3)	11.08

特開昭63-208594(フ)

以上の結果からDE価0.8~2.0のガス
トリンを用いることによりO-1-P収量が
増加することがわかつた。

以上

出願人 花王株式会社

代理人 弁理士 有賀三幸

弁理士 高野登志雄

弁理士 小野信夫